

Toxicogenómica: Una nueva rama de la toxicología

M. A. Capó, M^a T. Frejo

Tradicionalmente, la Toxicología ha estudiado los posibles efectos nocivos de una molécula analizando puntos de evaluación citológicos, fisiológicos, o morfológicos establecidos de manera empírica. Para ello se evalúan una serie de parámetros histopatológicos, bioquímicos o hematológicos que, con frecuencia, sólo son detectables tras exposición prolongada a elevadas dosis.

Por otra parte, la evaluación del riesgo en el ser humano debe derivarse de los estudios realizados en otras especies, fundamentalmente de roedores. Además, la mayor resolución que permiten los avances en instrumentación analítica demanda la valoración de dosis menores de los compuestos químicos, lo que exige números crecientes de animales.

Presiones contra la experimentación animal han empujado a toxicólogos hacia el desarrollado de estudios sobre cultivos celulares. Aunque muchos de estos ensayos son rápidos y económicos, su validez se ha visto lastrada por casos de falsos positivos y falsos negativos, y por una incapacidad inherente para determinar efectos sobre un órgano diana específico.

Desde la secuenciación del genoma humano hemos asistido a la aparición de las denominadas “ciencias omicas” impulsadas por los recientes avances en el proyecto del genoma humano y los desarrollos tecnológicos asociados.

El término genómica fue acuñado en 1986 por Thomas Roderick para referirse a la subdisciplina de la genética que se ocupa del mapeo, secuenciación y análisis de las funciones de genomas completos y sirvió de nombre para una revista especializada en la publicación de dichos temas denominada “Genomics”. Consiste en la caracterización molecular de genomas enteros y aporta información acerca de la secuencia y de la función de cada sector del genoma en diferentes situaciones de desarrollo y bajo diferentes condiciones ambientales, así como de los mecanismos implicados en la regulación de la expre-

sión e interacción génica. La información generada es enorme y es clave para la identificación y el aislamiento de genes de interés y permitirá interpretar, en términos moleculares los procesos biológicos. Para ayudar en este proceso han surgido poderosas herramientas bioinformáticas que permiten almacenar e interpretar esta información. Las aplicaciones de la genómica alcanzan a todos los ámbitos de la actividad humana relacionados con la biología, como la salud, la alimentación y el medio ambiente. En pocos años estarán disponibles las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de todos los genes y productos génicos codificados por los genomas de varios organismos complejos. Estas servirán para el estudio de enfermedades humanas complejas y para comprender fenómenos tales como la fisiología celular, el desarrollo, la conducta, la evolución, etc. También aportarán información acerca de todos los aspectos del crecimiento y desarrollo vegetal, diferenciación y respuesta a estreses bióticos y abióticos.

Gracias al potencial de relacionar fenotipos biológica y económicamente importantes con los genes responsables de los mismos será posible identificar genes de interés que puedan ser transferidos a otros organismos por medio de tecnología génica. Por otro lado, el conocimiento de la secuencia de los genes posibilitará el desarrollo de marcadores perfectos, basados en la secuencia del mismo gen, lo cual facilitará la selección y la transferencia de los mismos a variedades de interés.

La profundización en la individualidad genética de cada sujeto, tras establecerse el patrón genómico de la especie, permite realizar una mejor predicción de las posibilidades de contraer una enfermedad, lo cual nos permite plantear una actitud preventiva más eficaz, teniendo también en cuenta el valor predictivo sobre la respuesta a los fármacos y sobre la posible aparición de efectos adversos y secundarios.

Aplicando los avances de la genómica a la Toxicología ha aparecido una nueva área científica denominada Toxicogenómica que estudia la respuesta genómica de los organismos expuestos a agentes químicos. Estos incluyen fármacos, contaminantes ambientales, aditivos de alimentos y otros productos químicos de uso común.

La Toxicogenómica usa las metodologías e información de la ciencia genómica y de la informática para mejorar nuestra comprensión sobre las bases biológicas de las respuestas a los agentes tóxicos, por lo tanto, es una disciplina que nos permite entender por ejemplo, el rol de las interacciones entre genes y medio ambiente en el desarrollo de las enfermedades.

La genómica se divide en dos grandes áreas:

1.- Genómica estructural, que se ocupa de la caracterización física de genomas enteros, es decir, descifrar el número, orden y secuencia de los pilares (nucleótidos) de la molécula de ADN. Destaca el hecho de que los tres millones de pares de bases que integran los 23 cromosomas de la dotación haploide la especie humana, solo se identifican 20000-25000 genes codificantes, un número mucho más bajo del esperado. La conclusión que han dado los científicos es clara, la complejidad de una especie no se basa en el número de sus genes, sino en la calidad de los mismos, entendiendo por tal las características que determinan su funcionalidad.

Nivel de análisis	Definición	Método de análisis
Genoma	Conjunto completo de genes de un organismo o sus organelas	Secuenciación sistemática del ADN
Transcriptoma	Conjunto completo de moléculas de ARN mensajero presentes en una célula, tejido u órgano	Hibridación. SAGE (análisis seriado de la expresión de genes). Microplataformas de ADN
Proteoma	Total de moléculas proteicas presentes en una célula, tejido u órgano	Electroforesis bidimensional. Microplataformas de péptidos
Metaboloma	Conjunto completo de metabolitos (intermediarios de bajo peso molecular) en una célula, tejido u órgano	Espectroscopía con luz infrarroja Espectrometría de masa Espectrometría con resonancia nuclear magnética

Cuando esta secuencia se conoce, abre la puerta a numerosas posibilidades. Por análisis computacional de la misma y utilizando principios conocidos de genética y el análisis molecular de los transcritos y proteínas es posible:

- Comparar secuencias similares presentes en diferentes entidades biológicas y comprender el papel de dichas secuencias.
- Realizar predicciones acerca de todas las proteínas codificadas por una especie.
- Establecer las variaciones genéticas entre distintas poblaciones de una misma especie.
- Comparar secuencias de diferentes especies y entender procesos evolutivos.

Esto ha dado origen a la genómica comparativa y ha demostrado que existe una localización conservada de genes en posiciones equivalentes en especies relacionadas. También ha sido una excelente herramienta para identificar motivos de secuencia altamente conservados y, por lo tanto, funcionalmente importantes en regiones codificantes y no codificantes del genoma. Catalogar las variaciones genéticas entre individuos ayudará a identificar aquellos cambios que conducen a enfermedades genéticas, investigar nuevas terapias y establecer la resistencia o susceptibilidad a diferentes factores.

2.- Genómica funcional, consiste en la recolección sistemática de información sobre la función de los genes, mediante la aplicación de aproximaciones experimentales globales que evalúen la función de los genes haciendo uso de la información y elementos de la genómica estructural.

El objetivo es llenar el hueco existente entre el conocimiento de las secuencias de un gen y su función, para de esta manera desvelar el comportamiento de los sistemas biológicos. Se trata de expandir el alcance de la investigación biológica desde el estudio de genes individuales al estudio de todos los genes de una célula al mismo tiempo en un momento determinado

Dentro de la genómica funcional existen varios campos de investigación:

- Transcriptómica: Puede definirse como la genómica funcional a nivel de la transcripción, es decir a nivel de la formación del ARN mensajero a partir del ADN. Las técnicas que utilizan fundamentalmente son el microarray o microplataformas de ADN, que permite el análisis simultáneo de miles de genes. Los genes se disponen utilizando un sistema robotizado sobre un portaobjetos de microscopio. Sobre este chip de ADN se realizan experimentos de hibridación con muestras marcadas radiactivamente o con fluoróforo apropiados y los resultados se cuantifican mediante análisis con microscopía confocal. De esta manera se pueden identificar, de forma simultánea, patrones de expresión de miles de genes en un momento de desarrollo o en respuesta a diferentes estímulos ambientales. El análisis bioinformático de estos datos permite asociar grupos de genes que se expresan de forma coordinada y proporciona información importante sobre la función de los mismos.

- **Proteonómica:** Se define como la parte de la genómica funcional que se ocupa del estudio del conjunto total de proteínas expresadas por un genoma completo, incluyendo las modificadas después de la traducción. El método mas utilizado para estudiar la abundancia de proteínas es la electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida. Este método permite separar con gran resolución la mayoría de los polipéptidos celulares combinando de forma secuencial diferencias en carga y en masa molecular. Utilizando sistemas computerizados de análisis de imagen se seleccionan las proteínas cuya abundancia relativa cambia durante el desarrollo o en respuesta a diferentes estímulos ambientales. Los polipéptidos se purifican y digieren con proteasas para generar una colección de péptidos que se analizan por espectrometría de masas o se secuencian a partir del extremo amino. Para identificar la proteína, los perfiles de masa molecular o secuencias de aminoácidos obtenidos se comparan con las bases de datos de proteínas existentes utilizando potentes programas bioinformáticos. Estas aproximaciones experimentales permiten la identificación de miles de proteínas implicadas en la biología de la célula

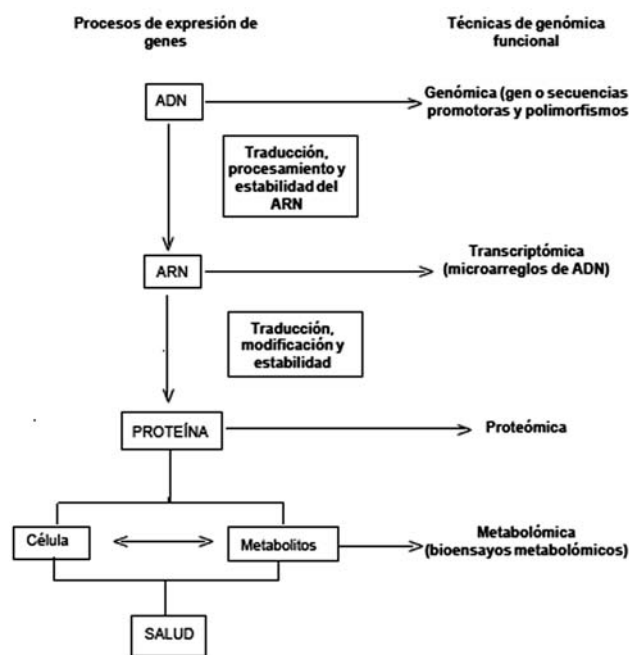
- **Metabolómica:** Con este término denominamos al conjunto total de metabolitos de una célula, consecuencia de la función de ARNm y proteínas. Permite identificar metabolitos en la célula y determinar perfiles de abundancia en relación a los estudios del transcriptoma y el proteoma. Los investigadores que trabajan en este campo defienden que solo de esta forma se podría definir en términos moleculares un fenotipo concreto.

La Toxicogenómica permite aplicar el conocimiento sobre la expresión de los genes y sus productos (las proteínas), para estudiar los efectos de los agentes químicos en los sistemas biológicos, lo que puede aplicarse sobre todo a la evaluación del riesgo.

La Toxicogenómica utiliza tecnologías de genómica y de proteómica para estudios de toxicidad. Por medio de la genómica se analizarán los patrones de expresión global de genes para detectar cambios en esta expresión que influyen, predicen o ayudan a definir toxicidad.

La tecnología toxicogenómica nos da la posibilidad de analizar miles de genes simultáneamente de un organismo expuesto a agentes tóxicos o con un padecimiento definido, para la búsqueda de:

a) Genes de susceptibilidad al daño.



b) Detección de patrones y mecanismos de toxicidad.

c) Determinar moléculas endógenas susceptibles al ataque de agentes tóxicos.

d) Perfiles específicos de expresión de genes que resulten en la generación de biomarcadores de exposición y de riesgo.

e) Biomarcadores de efecto temprano, que identifiquen el desarrollo precoz de una enfermedad antes de que sean evidentes cambios clínicos típicos, identificando además, factores de susceptibilidad que influyen en la respuesta individual frente a las distintas exposiciones tóxicas, así como las diferencias étnicas de susceptibilidad

Como estamos comprobando, uno de los beneficios fundamentales que nos ha aportado el descubrimiento de la secuencia genómica, es sin duda la posibilidad de analizar la individualidad genética, es decir, las variaciones que existen dentro de cada individuo cuyo genoma responde al del patrón de la especie pero con características propias de cada individuo. Los seres humanos nacen de un cigoto con una dotación genética que incorpora 23 cromosomas de cada progenitor. El resultado es una combinación única, que a lo largo de la existencia de cada individuo puede sufrir algunas modificaciones que si se incorporan a las células germinales, se transmitirán a la descendencia.

Fundamentalmente estas modificaciones las podríamos clasificar en:

- **Mutaciones:** en todas las células pueden tener lugar mutaciones puntuales espontáneas, generadas en un proceso replicativo normal o inducidas por la acción de distintos agentes, por ejemplo mutágenos. Una mutación puntual por cambio de una base puede tener efectos perjudiciales (alteración en la proteína correspondiente), beneficiosos (mejora de las características) o indiferentes. La individualidad genética humana se traduce en millones de posiciones en que de manera normal la base que se encuentra en esa posición puede cambiar. Estos cambios determinan polimorfismos abundantes en el genoma a los que se ha denominado polimorfismo de una sola base o "single nucleotide polymorphism en inglés SNPs".

- **Duplicaciones, trasposiciones, inserciones y deleciones:** los cambios en la dotación genética de las células pueden afectar a zonas más extensas que una sola base, lo que con frecuencia produce cambios significativos en el proceso replicativo así como consecuencias fenotípicas importantes cuando estas aparecen en extensiones variables en genes estructurales.

- **Recombinación:** la formación de nuevas combinaciones y disposiciones de los genes dentro del cromosoma como resultado de la mezcla independiente de genes no ligados o del sobrecruzamiento de genes ligados, es uno de los fenómenos más importantes como generador de la variabilidad individual.

Los esfuerzos para profundizar en la relación genes, ambiente, enfermedad, e intoxicaciones, representan un camino que debemos abordar para beneficiarnos de nuestro conocimiento sobre el genoma humano y en este contexto el estudio de los polimorfismos genéticos cobra una gran importancia. Enfermedades como la diabetes, enfermedades coronarias, cáncer, trastornos autoinmunes y otras muchas son el resultado de la interacción de polimorfismos diversos, en un fondo genético que puede facilitar desencadenar la patología a través de un ambiente que lo propicia. La determinación de la correlación genes-enfermedad supone un notable esfuerzo, pues los polimorfismos de interés son muchos e incluso diversas combinaciones de polimorfismo diferentes pueden determinar un fenotipo patológico similar.

Los programas de estudio de grandes cohortes, en las que se correlaciona el perfil genético con la patología esta conduciendo a la identificación de polimorfismos que pueden servir como biomarcadores de

la enfermedad o de la propensión a padecerla. El perfil genético individual también influye en la respuesta a los fármacos. Se ha observado la asociación de determinados polimorfismos genéticos, a veces presentes en mayor proporción en algunos grupos étnicos, con respuesta a fármacos que se ven relativamente alterados con respecto al patrón considerado normal.

El conocimiento de la individualidad genética permite predecir por ejemplo la respuesta a los fármacos, tanto desde el punto de vista del efecto terapéutico como de las reacciones adversas, lo que permitirá excluir a determinados sectores de la población del tratamiento con principios activos concretos para prevenir posibles problemas como intoxicaciones y reacciones no deseadas.

Esta información cambiará dramáticamente el conocimiento sobre el riesgo de las enfermedades humanas y proporcionará nuevas oportunidades para proteger la salud humana de contaminantes de alta toxicidad y a prevenir las enfermedades.

El potencial que arroja esta herramienta de análisis trae consigo sin embargo, diversas cuestiones éticas, legales y sociales que requieren un sabio y justo abordaje. El uso efectivo del conocimiento de la información generada por esta tecnología genómica resultará en un enorme beneficio para la biomedicina y la salud humana.

Bibliografía

- Adonis, M. y Gil, L. (2002). Toxicogenómica: una nueva disciplina para evaluar el riesgo de la contaminación ambiental. *Revista Ambiente y Desarrollo* 18 (2-4): 49-54
- Avila Sáez, C. (2005). Tendencias en las «ómicas» de plantas. *Encuentros en la Biología*, 100: 8-10
- Balbus, J. M. (2005). Ushering in the New Toxicology: Toxicogenomics and the Public Interest. *Environmental Health Perspectives*, 113 (7): 818-822
- Echenique, V., Rubinstein C. y Mroginski, L. (2002). *Biotechnología y Mejoramiento Vegetal*. Ed. INTA. Buenos Aires
- Fundación OPTI y Fundación Genoma España. (2004). *Impacto de la Biotechnología en los sectores Agrícola, Ganadero y Forestal. Tendencias tecnológicas a medio y largo plazo*. Ministerio de Industria, Turismo y Comercio. Madrid

- García-Vallejo, F. (2004). La genómica nutricional: un nuevo paradigma de la investigación de la nutrición humana. Colombia Médica 35 (3): 150-160

- Gislburg, G.S. and Angrist, M. (2006). The future may be closer than you think: a response of the Personalised Medicine Coalition to the Royal Society report on personalized medicine. Pers. Med. 3: 119

- Jorcano, J.L. (2004). La integración del genoma, la biotecnología y la medicina: el futuro que nos viene. El Médico. Anuario 2004, 46-52

- Medina Alonso, J. (2003). Aportaciones de la toxicogenómica: de los procedimientos in vitro a la evaluación del riesgo. Rev. Toxicol. 20: 82

- Parisi, C. A. S. (2005). Microarray. Archivos de alergia e inmunología clínica, 36(1):15-19

- Penchaszadeh V. (2000). Aspectos éticos en genética médica. En: Bergel S, Cantú JM, (org.) Bioética y Genética. Editorial Ciudad Argentina, Buenos Aires.

